

ナチュラルチーズ中のチラミンの低減化

川上 誠・田村吉史

Curtailment of tyramine in natural cheese

Makoto KAWAKAMI and Yoshifumi TAMURA

Decreasing Tyramine in Natural Cheese

It is known that biologically active amines (such as tyramine and histamine) are produced during cheese maturation through the enzymatic decarboxylation of their corresponding amino acids. However, ingesting cheese that contains tyramine can result in a "cheese effect" or "cheese reaction" that manifests itself through physiological effects such as hypertension, headaches and nausea. In this study, methods for decreasing tyramine content were applied to both a test tube environment and the actual production of sample cheeses. The parameter variables investigated were salt content, temperature during maturation, and the type lactic bacteria starter.

The addition of salt repressed tyramine production in the test tube environment, but a similar increase in salt content during the production of sample cheeses did not have any effect. Tyramine production was effectively minimized in both the test tube environment and the sample production, however, through temperature controls during cheese maturation and an appropriate selection of lactic acid bacteria starter.

ナチュラルチーズの熟成過程において、ナチュラルチーズのタンパク質は乳酸菌等の微生物の産生するタンパク質分解酵素により分解されて遊離アミノ酸を生成する。さらにこれらのアミノ酸はアミノ酸デカルボキシラーゼによって、チラミン、ヒスタミンなどのアミンに脱炭酸されることが知られている。

これらアミンは交感神経興奮作用を有するため、多量の摂取は血圧上昇、頭痛、嘔吐などの生理作用を呈することが知られている。摂取されたアミンは体内のモノアミンオキシダーゼにより分解され無毒化するが、この代謝活性は個人によって異なる。特に、抗結核剤、抗うつ剤などの中にはモノアミンオキシダーゼの作用を阻害するものがあり、これらの薬剤を服用している患者では、その作用も著しい。チーズの消費量の多い欧米では、チーズ摂取によるこれらの生理作用を cheese effect または cheese reaction と呼ばれ早くから注意が促されていた^{1)~5)}。

国内ではチーズによるこれらの発生例はない。しかし、竹葉らによるチーズ中のチラミン調査報告⁶⁾によると、

国内における市販チーズについても高濃度にチラミンを含有しているものが存在する。

そこで、本研究では市販チーズのチラミンの含有量を調査するとともに、製造過程におけるチラミンの低減化を図るため塩分、熟成温度、乳酸菌の選択について検討した。

実験方法

1. 試料

北海道内で市販されているチーズ 36 検体（輸入品 19 検体、国産品 17 検体）および当センターで試作したナチュラルチーズを用いた。

2. ナチュラルチーズの製造

乳酸菌スターターは HANSEN 社製 LD カルチャー CH-N-01 (以下乳酸菌 01) および表 3 に示す乳業技術協会製の 8 種類の乳酸菌を、青かびスターターは HANSEN 社製 PR-1 を用いた。

チーズ製造は 1 ロットあたり 100 kg の原料乳を用い、65°C、30 分で殺菌後、酸度規定法により行い、以下の成

形，加塩を行った。

① 半硬質タイプ（以下ゴードチーズ）

直径約 18 cm，厚さ約 8 cm，重量約 1.8 kg に成形し，塩水を用いて加塩した。

② 青かびタイプ（以下ブルーチーズ）

直径約 8 cm，厚さ約 10 cm，重量約 0.5 kg に成形し，直接塗抹法で加塩した。

3. 脱脂乳を用いたチラミン生成の予備試験

① 塩分の影響

10%の滅菌脱脂乳 100 ml にチロシン 10 mg を添加（以下チロシン添加脱脂乳）後，菌数 10^6 個の乳酸菌を添加し，塩分 0, 3, 5, 10, 20% の 5 段階にとり，温度 37°C，6 時間培養後，生成するチラミン量を測定した。

② 熟成温度の影響

①と同様にチロシン添加脱脂乳に，菌数 10^6 個の乳酸菌 01 を添加し，培養温度を 10, 20, 30, 37°C の 4 段階にとり，培養時間 18 時間目までに生成するチラミン量を測定した。

③ 乳酸菌の選択

同様にチロシン添加脱脂乳に，乳業技術協会製の 8 種類の乳酸菌を各々菌数 10^6 個添加し，培養温度 37°C，培養時間 72 時間での生成するチラミン量を測定した。

4. ナチュラルチーズでのチラミン生成試験

① 塩分の影響

飽和食塩水と 15%食塩水の 2 種類の塩水を用いて試作したゴードチーズを用い，熟成温度 15°C，熟成期間 8 カ月で，その間の全窒素量，水溶性窒素量，タンパク質分解度，チラミン生成量の経時変化測定した。

② 熟成温度の影響

試作ブルーチーズの熟成温度を 5，10，15°C の 3 段階とし，熟成期間 16 週で，その間の全窒素量，水溶性窒素量，タンパク質分解度，チラミン生成量の経時変化測定した。

③ 乳酸菌の選択

乳酸菌 01 を対照として，乳業技術協会製の 8 種類の乳酸菌を用いて，ブルーチーズの試作を行い，熟成温度 10°C，熟成後 4 週間目の全窒素量，水溶性窒素量，タンパク質分解度，アミノ酸量，チロシン量，チラミン生成量，乳酸菌数を測定した。

3. 分析方法

全窒素量，水溶性窒素量の前処理および測定は乳業技術便覧による方法に準拠して行い，タンパク質分解度は水溶性窒素量の全窒素量に対する割合として算出した⁷⁾⁸⁾。

アミノ酸測定はイソチオシアン酸フェニルによるプレカラム誘導体化により高速度液体クロマトグラフィーで行った⁹⁾。

チラミンの前処理および測定は竹葉らの高速液体クロマトグラフィーに準拠した⁶⁾。

乳酸菌数測定は乳製品試験法による BCP 加寒天培地を用いる方法で行った¹⁰⁾。

実験結果および考察

1. 市販チーズ中のチラミン含有量

各種市販チーズ中のチラミン含有量を表 1 にした。チラミンは長期熟成型の硬質系チーズの方が短期熟成型のチーズより多く含有され，また，輸入チーズの方が国産チーズに比べ多く含有される傾向がみられた。特にブルーチーズの中にチラミン濃度が 960 $\mu\text{g/g}$ とかなり高いものがあることが明らかになった。

2. 試作チーズにおけるチラミンの生成

試作ゴードチーズのチラミン生成量の経時変化を図 1 に，タンパク質分解度の経時変化を図 2 に示した。タンパク質分解度，すなわち全窒素に対する水溶性画分の窒素含量は一般的にチーズ熟度の指標の一つとして利用さ

表 1 市販チーズのチラミン含有量

種 類	チラミン濃度 ($\mu\text{g/g}$)	
	輸入品	国産品
白かびタイプ	ND~128	ND~88
青かびタイプ	41~960	
ウオッシュタイプ	36~57	
セミハードタイプ	21~82	ND~73
ハードタイプ	80~200	
プロセスチーズ		ND~67

ND：検出せず（検出限界 1 $\mu\text{g/g}$ ）

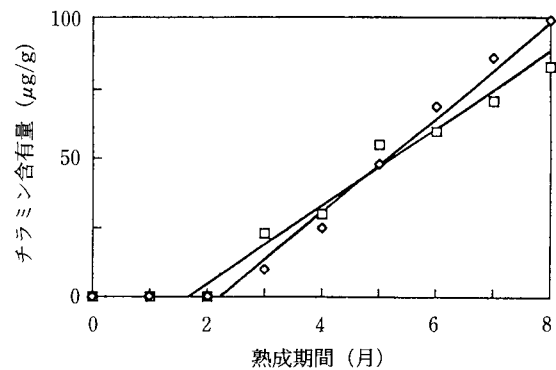


図 1 試作ゴードチーズ中のチラミン含有量の変化

熟成温度： 15°C

加塩方法：□飽和食塩水ブライン

◇15%食塩水ブライン

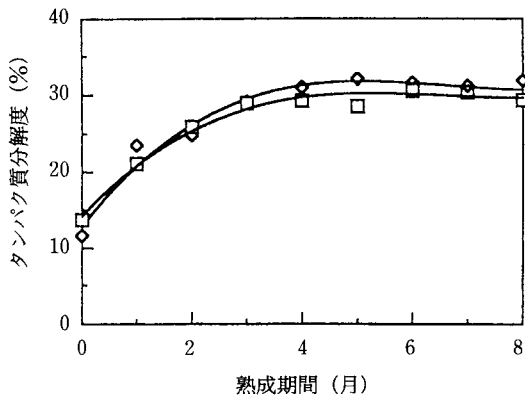


図2 試作ゴーダチーズ中のタンパク質分解度の変化
 熟成温度：15°C
 加塩方法：□ 飽和食塩水
 ◇ 15%食塩水

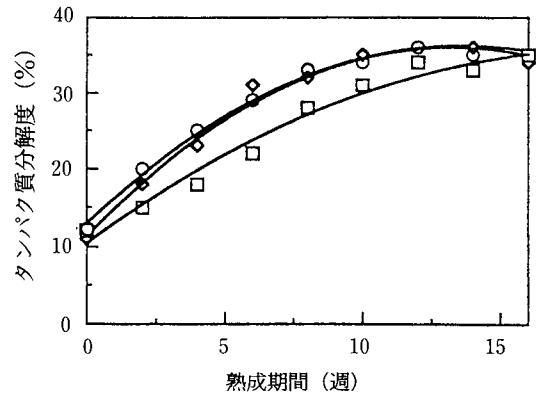


図4 試作ブルーチーズ中のタンパク質分解度の変化
 熟成温度：□ 5°C熟成
 ◇ 10°C熟成
 ○ 15°C熟成

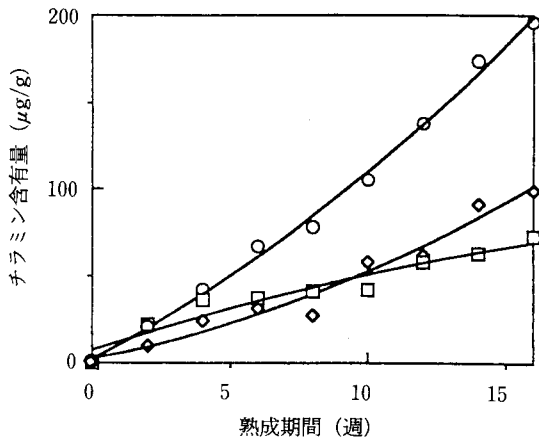


図3 試作ブルーチーズ中のチラミン含有量の変化
 熟成温度：□ 5°C熟成
 ◇ 10°C熟成
 ○ 15°C熟成

れるが、ゴーダチーズでは、熟成約3カ月でタンパク質分解度が約30%に達し、その後熟成10カ月まで大きな変化をみない。一方、チラミンの生成は熟成約2カ月目から熟成とともに直線的に増加する傾向がみられる。このことから、チーズ中のタンパク質の低分子化が進み、タンパク質分解度が飽和に達する少し前、すなわち、チーズが食味に適する少し前からチラミン生成量が直線的に増加することが明らかになった。

試作ブルーチーズのチラミン生成量の経時変化を図3に、タンパク質分解度の経時変化を図4に示した。ブルーチーズの場合、ゴーダチーズに比べ極めて早い時期にチラミンが生成することが明らかになった。これは青かびスターターによるタンパク質の低分子化を示唆するもの

である。

3. 塩分がチラミン生成に与える影響

表2に脱脂乳による予備試験の結果を示した。食塩無添加のものでは3.3 μg/ml、塩分3%のもので0.2 μg/mlのチラミン生成があったのに対し、本条件下では、それ以上の塩分ではチラミンの生成は認められなかった。このことから、チーズ中の塩分がチラミン生成を抑制することが予想される。

次に、飽和食塩水と15%食塩水の2種類を用いたゴーダチーズにおけるチラミン生成の経時変化を図1に示した。熟成6カ月におけるゴーダチーズの塩分は飽和食塩水を用いたもので3.6%、15%食塩水を用いたもので2.0%であった。後者のチーズの塩分はゴーダチーズとして標準的なものであり、前者はかなり塩辛い状態であったが、両者のチラミン生成については大きな差は認められず、加塩によるチラミンの抑制は認められなかった。

以上のことから、予備試験では塩分によるチラミン抑制が予想されたものの、実際に食用に供するナチュラル

表2 塩分がチラミン生成に与える影響

塩分 (%)	チラミン生成量 (μg/ml)
0	3.3
3	0.2
5	ND
10	ND
20	ND

ND：検出せず（検出限界 0.1 μg/ml）
 培養条件
 培地：チロシン添加脱脂乳
 培養時間：6時間
 培養温度：37°C

チーズにおいては、その塩分濃度を極端に増加させることはできず、實際上塩分によるチラミン抑制は難しいと考えられる。

4. 熟成温度がチラミン生成に与える影響

図5に脱脂乳による予備試験の結果を示した。培養温度30、37°Cの場合チラミン生成が著しいの対し、培養温度10°Cでは18時間経過後もチラミンの生成は認められなかった。このことから、培養温度によりチラミン生成が影響されることがわかる。

次に、ブルーチーズを試作後、熟成温度5、10、15°Cでチラミン生成の経時変化を図3に、タンパク質分解度

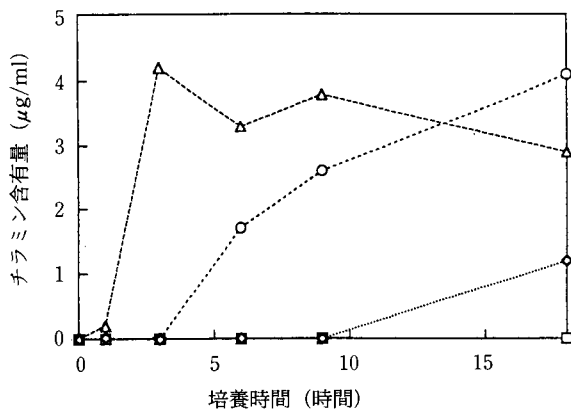


図5 チラミン生成に与える培養温度の影響

培養温度：□10°C
◇20°C
○30°C
△37°C

を図4に示した。チラミンの成長は15°C熟成のものに比べ、5、10°C熟成では抑制されている。一方、タンパク質分解度は10、15°C熟成で大きな差は認められず、また、5°C熟成は、以上のことかな熟成温度を10°Cにすることにより、チーズの熟度を遅らせることにくチラミン生成を抑制できることが明らかになった。

5. 乳酸菌の選択

表3に脱脂乳による予備試験の結果を示した。乳業技術協会製 *Lac. delbrueckii subsp. bulgaricus* B-5 b に (以下B-5 b) によるチラミン生成量は2.1 µg/mlと低い値であった。このように乳酸菌スターターによりチラミン生成能が異なることが明らかになった。

次に、これらのスターターを利用した試作ブルーチーズのチラミン測定を実施した。同一原料乳を用い、乳酸

表3 乳酸菌がチラミン生成に与える影響

乳酸菌	チラミン (µg/ml)
<i>Str. lactis subsp. lactis</i> 527	3.9
<i>Str. lactis subsp. cremoris</i> H-61	8.4
<i>Str. lactis subsp. diacetylactis</i> N-7	4.2
<i>Str. salivarius subsp. thermophilus</i> 510	4.8
<i>Lac. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> B-5b	2.1
<i>Lac. helveticus</i> B-1	4.0
<i>Lac. acidophilus</i> L-54	4.9
<i>Lac. casei subsp. casei</i> L-14	3.1

培養条件
培地：チロシン添加脱脂乳
培養時間：72時間
培養温度：37°C

表4 9種の乳酸菌スターターを用いた試作ブルーチーズの成分分析

乳酸菌	タンパク質 (%)	水溶性窒素 (%)	タンパク質分解度 (%)	アミノ酸 (mg/g)	チロシン (mg/g)	チラミン (µg/g)	乳酸菌数 (10 ⁸ cfu/g)
1	19.9	0.74	24	61.5	2.1	3.7	3.7
2	21.6	0.66	20	53.1	1.8	6.5	4.4
3	22.7	0.86	24	59.6	2.3	1.6	5.2
4	20.0	0.72	23	62.2	2.4	2.1	3.8
5	21.0	0.68	21	57.7	2.1	1.4	3.7
6	19.5	0.68	22	51.8	2.0	3.7	5.0
7	20.7	0.75	23	59.2	2.3	3.8	4.4
8	19.7	0.72	23	64.1	2.3	8.0	17
9	20.3	0.72	23	55.4	2.0	6.8	4.9

乳酸菌

- 1 : *Str. lactis subsp. lactis* 527
- 2 : *Str. lactis subsp. cremoris* H-61
- 3 : *Str. lactis subsp. diacetylactis* N-7
- 4 : *Str. salivarius subsp. thermophilus* 510
- 5 : *Lac. delbrueckii subsp. bulgaricus* B-5b
- 6 : *Lac. helveticus* B-1
- 7 : *Lac. acidophilus* L-54
- 8 : *Lac. casei subsp. cssei* L-14
- 9 : *Chr. hansen's* CH-N-01

熟成条件

熟成温度：10°C
熟成期間：4週間

菌 01 を対照として、8 種類の乳酸菌について同時に製造を行った。熟成後 4 週間目の試作ブルーチーズの成分結果を表 4 に示す。タンパク質、水溶性窒素、タンパク質分解度、遊離アミノ酸、チロシンについては各試作チーズ間に大きな差は認められない。このことから各試作チーズには製造過程におけるばらつきはないと考えられる。これに対しチラミンの生成量は使用した乳酸菌スターターに影響され、B-5 b で $1.4 \mu\text{g/g}$ 、乳業技術協会製 *Str. lac tis subsp. diacetylactis* N-7 (以下 N-7) で $1.6 \mu\text{g/g}$ と低い値を示した。このことから乳酸菌スターターの選択によりチラミンの低減化が図られることが明らかになった。もっとも、試作チーズの官能検査の結果、B-5 b スターターによる試作チーズはフレーバーの面で劣り、スターターとして単菌での使用は難しいと予想される。しかし、フレーバー産生菌である N-7 を混合することによりフレーバーの問題は解決されると推察される。

要 約

ナチュラルチーズ中のチラミンを低減化するため、チーズの塩分、熟成温度、添加スターターについて検討し、次の知見を得た。

1) チーズの塩分を高濃度にするには、チラミンの生成を抑制するが、食用に供するチーズの塩分を極端に増加させることはできないため、食用に適する範囲内

で塩分を高めることによるチラミンの低減化は難しい。

- 2) 熟成温度を 10°C にすることで、チーズの熟度をそこなわずに、チーズ中のチラミン生成を抑制できる。
- 3) チラミン生成の少ない乳酸菌スターターを選択することによりチーズ中のチラミンを低減化することができる。

文 献

- 1) EDWARDS S.T. and SANDINE W.E.: *J.Dairy Sci.*, **64**, 2431 (1981)
- 2) SMITH T.A.: *Food Chem.*, **6**, 169 (1981)
- 3) BUCHAAN R.L.: *J. food saf.*, **4**, 125 (1982)
- 4) LALEYE L.C, SIMARD R.E, GOSSELIN C., LEE B. H., and GIROUX R.N.: *J.Food Sci.*, **52**, 303 (1987)
- 5) 渡辺乾二: *New Food Ind.*, **30**, 35 (1988)
- 6) 竹葉和恵, 村上文子, 松本昌雄, 中澤裕之: 食衛誌, **31**, 137 (1990)
- 7) 酪農技術普及学会編, 乳業技術便覧, 実業図書 (1964)
- 8) ZERFIDIS G.K.: *J.Dairy Sci.*, **67**, 1397 (1984)
- 9) 桑野和民, 酒巻千波, 三田村敏男: 農化, **61**, 53 (1987)
- 10) 日本薬学会編, 乳製品試験法・注解, 金原出版 (1984)